

Title	Lineage Switch in Childhood Leukemia with Monosomy 7 and Reverse of Lineage Switch in Severe Combined Immunodeficient Mice
Author(s)	藤崎, 弘之
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/41713">https://hdl.handle.net/11094/41713</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	ふじ 藤 崎 弘 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 4 9 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系専攻
学 位 論 文 名	Lineage Switch in Childhood Leukemia with Monosomy 7 and Reverse of Lineage Switch in Severe Combined Immunodeficient Mice (小児モノソミー 7 白血病における lineage switch と SCID マウスに おける lineage switch の逆転)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡田伸太郎  (副査) 教 授 宮坂 高之 教 授 金倉 讓

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 【目的】

Lineage switch は白血病が診断時の lineage (リンパ系, 骨髄系) から後に別の lineage に変化する現象で, 再発白血病では 6~9% に生じると報告され, 小児例が主である。その機序としては, リンパ系にも骨髄系にも分化する多分化能前駆細胞が白血化し, 診断時に優位であったクローンが化学療法で根絶されたあと異なる表現型を有する他のクローンが進展する, あるいは新たな白血病誘発事象が原因となって生じるなどと考えられているが, 明らかではない。モノソミー 7 は多分化能前駆細胞を含むさまざまな分化段階の造血細胞の異常増殖に関わるという示唆があるが, 数例の急性 B 前駆細胞性白血病と混合性白血病を除けば MDS や AML などの骨髄系疾患のみでモノソミー 7 が報告されている。本論文では, T 細胞性から骨髄性に lineage switch した極めて稀な小児モノソミー 7 白血病細胞を用いて SCID マウスモデルと in vitro 培養によりその性質を解析するとともに, lineage switch や混合性白血病細胞の生物学的解析におけるサイトカイン投与 SCID マウスモデルの有用性を明らかにすることを目的とした。

### 【方法】

患者は, モノソミー 7 を有する急性 T 細胞性白血病で発症し, 急性リンパ性白血病に対する化学療法中に骨髄性白血病に lineage switch した 2 歳男児。両親からのインフォームドコンセントに基づき得た患者細胞を用いて, 以下の実験をおこなった。

- ① Lineage switch 後の細胞  $1 \sim 4 \times 10^7$  個を CB-17 SCID マウス (雌, 6~8 週齢) 13 匹の尾静脈より静注した。マウスに対する前処置は, 静注 3~1 日前の抗アシアロ GM1 抗体  $20 \mu\text{g}$  / 日腹腔内投与と静注直前の放射線全身照射  $200 \text{ cGy}$  で行なった。移植マウスはサイトカイン無投与群 (7 匹), GM-CSF 投与群 (rh GM-CSF  $3 \mu\text{g}$  を 4 日毎に腹腔内投与。3 匹), IL-3 投与群 (rh IL-3  $3 \mu\text{g}$  を 4 日毎に腹腔内投与。3 匹) の 3 群にわけ, 発病後解剖し各臓器を得た。骨髄と末梢血からは細胞を回収してフローサイトメトリーで表面抗原を解析するとともに, PCR とダイレクトシーケンシングで T 細胞受容体遺伝子再構成と N-ras 遺伝子変異を解析した。脳, 脊髄, 胸腺, 肺, 肝, 脾については, 抗ヒト CD45 抗体を用いた免疫組織染色で移植細胞の浸潤を評価した。
- ② Lineage switch 後の細胞をサイトカイン無添加, GM-CSF  $10 \text{ ng/ml}$  添加, IL-3  $10 \text{ ng/ml}$  添加の 3 群にわけ 10% FCS 加 RPMI 中で培養し, 定期的に 3 群の増殖を比較するとともに, 培養細胞を回収してフローサイトメ

リーで表面抗原を解析した。

③ 初発時の細胞についてフローサイトメトリーで表面抗原を解析するとともに、PCR とダイレクトシーケンシングでT細胞受容体遺伝子再構成とN-ras 遺伝子変異を解析した。

#### 【成績】

移植後55～116日で全マウスに細胞生着が得られた。細胞浸潤は脳、脊髄、胸腺、肺、肝、脾にみられ、サイトカイン無投与群とサイトカイン投与群間に差はなかった。サイトカイン無投与マウス群に生着した細胞はすべて骨髓性クローンであった。サイトカイン投与マウス群では、骨髓性クローンが生着したIL-3 投与マウスの1匹を除いた全例にT細胞性クローンが生着した。このふたつのクローンは同一の変異N-ras 遺伝子（コドン61：CAA→CAC）をもっていたが、T細胞受容体 $\gamma$ 鎖遺伝子再構成はT細胞性クローンのみが有していた。またこのT細胞受容体 $\gamma$ 鎖遺伝子再構成は、初発時細胞のT細胞受容体 $\gamma$ 鎖遺伝子再構成とN領域を含めて同一であった。一方in vitro 培養では、サイトカイン添加群で細胞増殖が促進されたが、サイトカイン無添加群、サイトカイン添加群ともに骨髓性クローンのみが生着した。

#### 【総括】

本例ではモノソミー7とN-ras 遺伝子変異をもつT細胞/骨髓球共通前駆細胞がT細胞方向に分化した段階で初発時のT細胞性クローンが発生し、そのT細胞/骨髓球共通前駆細胞に生じた別のイベントにより骨髓性クローンが発生したものと推定される。T細胞性クローンの生育はGM-CSF、IL-3 とマウスの造血微小環境に依存性であったが、骨髓性クローンはそれらに非依存的に生育した。このことは骨髓性クローンがT細胞性クローンより化学療法に抵抗性であったことと関連しているものと思われる。SCID マウスを用いる方法はlineage switch や混合性白血病の生物学的性質の解析に有用であると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

当論文は、急性T細胞性白血病から急性骨髓性白血病にリニエージスイッチした小児モノソミー7 白血病細胞の生物学的性質を、SCID マウスモデルとin vitro 培養モデルを用いて解析したものである。リニエージスイッチは、急性白血病の数%に生じるが、その根本的機序は明らかでない。

本論文から以下のような結果・知見が得られている。

- 1) サイトカイン投与 SCID マウスモデルによるリニエージスイッチ後微少残存クローンの生育は、リニエージスイッチの機序や混合性白血病の病態の解明に貢献する解析方法と考えられる。
- 2) モノソミー7 急性T細胞性白血病が提示されているが、これはモノソミー7 がT細胞の白血化に関与しうることを初めて示した。

以上より、当論文の内容は博士（医学）の学位授与に値するものである。